

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
FACULTATEA DE MEDICINĂ
ȘCOALA DOCTORALĂ
CATEDRA DE BIOCHIMIE**

**Eficiența unor terapii în reducerea efectelor
adverse induse de steroizii sistemici**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
PROF. UNIV. DR. MOHORA MARIA**

**Student-doctorand:
CERNAT CĂS. BALABAN MIHAELA**

2020

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
I. PARTEA GENERALĂ	5
1. HORMONII GLUCOCORTICOIZI	5
1.1. Introducere	5
1.2. Glucocorticoizii naturali.....	5
1.3. Glucocorticoizii sintetici	12
1.4. Receptorul glucocorticoid	18
1.5. Acțiunile cortizolului.....	24
1.6. Reacții adverse induse de administrarea glucocorticoizilor.....	28
2. VITAMINA E.....	35
2.1. Generalități și structură chimică.....	35
2.2. Metabolismul vitaminei E	37
2.3. Rolurile vitaminei E	38
2.4. Vitamina E și sindromul metabolic	40
2.5. Vitamina E și administrarea de glucocorticoizi	43
3. NOȚIUNI RELEVANTE DE NANOMEDICINĂ	45
3.1. Introducere	45
3.2. Nanoparticulele PLGA.....	46
II. CONTRIBUȚII ORIGINALE	49
4. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI.....	49
5. MATERIAL ȘI METODĂ	51
5.1. Experiment	51
5.2. Determinări biochimice.....	53
5.2.1. Determinarea cortizolului seric	53
5.2.2. Determinarea vitaminei E serice	53
5.2.3. Determinarea glicemiei	54
5.2.4. Determinarea hemoglobinei glicozilate	54
5.2.5. Determinarea aspartat- aminotransferazei (AST)	54
5.2.6. Determinarea alanin-aminotransferazei (ALT)	55
5.2.7. Determinarea fosfatazei alcaline	56
5.2.8. Determinarea trigliceridelor serice.....	56
5.2.9. Determinarea colesterolului seric total.....	57
5.2.10. Determinarea HDL colesterolului seric.....	57
5.2.11. Determinarea albuminei serice	58
5.2.12. Determinarea proteinelor serice totale	58
5.2.13. Determinarea acidului uric seric	59
5.2.14. Determinarea ureei serice.....	59
5.2.15. Determinarea sodiului seric.....	60
5.2.16. Determinarea capacității antioxidante totale.....	60
5.3. Examinarea histopatologică a țesuturilor	60

5.5. Analiza statistică.....	63
6. REZULTATE.....	64
6.1. Efectele administrării vitaminei E în grupurile „Standard” tratate cu prednison.....	64
6.1.1. Evaluarea greutateților în grupurile „Standard”.....	64
6.1.2. Evaluarea parametrilor de biochimie clinică în grupurile „Standard” 70	
6.1.3. Evaluarea histopatologică a țesuturilor în grupurile „Standard” ...	88
Evaluarea histopatologică a modificărilor hepatice	88
Evaluarea histopatologică a modificărilor pancreatice	91
6.2. Efectele administrării vitaminei E în grupurile „Obeze” tratate cu prednison.....	95
6.2.1. Evaluarea greutateților în grupurile „Obeze”	95
6.2.2. Evaluarea parametrilor de biochimie clinică în grupurile „Obeze” 101	
6.2.3. Evaluarea histopatologică a țesuturilor în grupurile „Obeze”	119
Evaluarea histopatologică a modificărilor hepatice	119
Evaluarea histopatologică a modificărilor pancreatice	123
6.3. Influența dietei standard versus cea a dietei hipercalorice, hiperlipidice și hiperglucidice la șobolani Wistar tratați cu prednison și vitamina E.....	128
6.3.1. Evaluarea greutateților	128
6.3.2. Evaluarea parametrilor de biochimie clinică.....	132
6.4. Corelații	142
6.4.1. In grupul „Standard”	142
6.4.2. In grupul „Obez”	155
7. DISCUȚII.....	166
8. CONCLUZII	180
CONTRIBUȚII PERSONALE	184
BIBLIOGRAFIE	185
LISTĂ TABELE.....	206
LISTĂ FIGURI	207
ANEXA 1: LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE	211
ANEXA 2: AVIZUL COMISIEI DE ETICĂ A CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE 222	

INTRODUCERE

Glucocorticozii sunt medicamente cu importanță deosebită, folosite în scop terapeutic la pacienții cu boli inflamatorii, autoimune și alergice, dar și în tratamentul afecțiunilor neoplazice limfatice și după un transplant de organ, pentru a evita rejecția organului transplantat. Aceștia se remarcă prin efectul lor antiinflamator, imunosupresor, antiangiogenic și antiproliferativ. Cu toate acestea, folosirea atât pe termen lung, cât și a unor doze crescute ale acestor medicamente determină, inevitabil, apariția efectelor adverse. Dintre acestea, modificările metabolice și endocrine sunt similare celor din sindromul metabolic.

Este important de menționat faptul că gestionarea reacțiilor adverse induse de glucocorticoizi rămâne o provocare în practica medicală. La acest moment, în literatura de specialitate există puține studii în care s-a încercat folosirea unor remedii cu scopul de a contracara efectele adverse induse de glucocorticoizi. Astfel, identificarea unor strategii terapeutice în vederea prevenirii sau reducerii acestor efecte negative devine imperios necesară.

Vitamina E a fost în ultimii ani în atenția cercetătorilor, întrucât și-a dovedit beneficiul în reducerea sindromului metabolic și a obezității. În plus, aceasta a prevenit anumite efecte adverse induse de antiinflamatoarele non-steroidiene și le-a potențat eficiența terapeutică, afirmație care s-a dorit a fi probată și în cazul glucocorticoizilor.

În acest sens, afirmațiile enunțate mai sus au stat la baza premisei studiului actual: folosirea vitaminei E drept modalitate terapeutică și de prevenție a efectelor adverse induse de glucocorticoizi.

I. PARTEA GENERALĂ

1. HORMONII GLUCOCORTICOIZI

1.1. Introducere

Glucocorticoizii naturali sunt hormoni sintetizați de glanda suprarenală pornind de la colesterol, a căror secreție este influențată de ritmul circadian și de stres (Kadmiel, 2013). Principalul rol este acela de a menține homeostazia și procesele metabolice în limite normale. Termenul de „glucocorticoizi” aduce în atenție importanța deosebită a acestor hormoni asupra metabolismului glucidic (Kleiman, 2007).

Glucocorticoizii sintetici sunt înrudiți ca structură și funcție cu cei naturali. Aceștia se remarcă prin efectul antiinflamator, imunosupresor, antiproliferativ și antiangiogenic, fiind utilizați atât în tratamentul unor boli inflamatorii, autoimune și alergice, cât și în tratamentul neoplaziilor limfatice și post-transplant, pentru a preveni rejecția organului transplantat (Kadmiel, 2013; Oakley, 2013).

1.2. Glucocorticoizii naturali

Cortizolul este principalul hormon glucocorticoid uman, în timp ce corticosterona este principalul hormon la rozătoare (Macfarlane, 2008).

Hormonii steroizi au în comun o structură chimică numită ciclo-pentano-fenantren, care este organizată în trei inele a câte șase atomi de carbon (C) (hexan) și un inel a câte cinci atomi de C (pentan) (Miller, 2011). În urma unor transformări chimice ce presupun adăugarea unor atomi de C, iau naștere trei familii steroidiene, din care vor deriva hormonii steroizi: C18, *estran* (estrogeni); C19, *androstan* (androgeni) și C21, *pregnan* (corticoizi și progestine) (White, 2002a; Mohora, 2019a).

Hormonii steroizi au ca precursor colesterolul, provenit din trei surse: a) sinteza de novo din acetil-Coenzima A la nivelul glandei; b) din degradarea lipoproteinelor cu densitate scăzută (*low-density lipoproteins*, LDL) bogate în colesterol; c) din depozitele de colesterol esterificat din glandă (White, 2002a; Mohora, 2019a).

1.3. Glucocorticoizii sintetici

Structura chimică

Glucocorticoizii cu administrare exogenă se diferențiază între ei prin structura chimică, prin durata de acțiune și prin potența glucocorticoidă și mineralocorticoidă (White, 2002a; Cristea *et al.*, 2006). Toți glucocorticoizii sintetici au structură chimică asemănătoare cu cea a cortizolului, cu 21 atomi de C, cu grupare cetonică la C3, trei grupări hidroxil la C11 (β), C17 (α) și C21 și legătură dublă între C4-C5 (Cristea *et al.*, 2006). Structurile chimice ale cortizolului (glucocorticoid endogen) și ale hidrocortizonului (glucocorticoid sintetic) sunt identice (Kadmiel, 2013).

Exemple de glucocorticoizi exogeni: compuși nesaturați cu legătura dublă la C1: prednison, prednisolon; compuși cu fluor: dexametazonă, betametazonă, triamcinolon; derivați cu grupare metil: metilprednisolon, dexametazonă (Cristea *et al.*, 2006).

Modul de administrare

Calea de administrare a glucocorticoizilor poate fi: orală: prednison, prednisolon, metilprednisolon, dexametazonă; injectabilă intravenos/ intramuscular: dexametazonă, hemisuccinat de hidrocortizon; topică: intraocular (dexametazonă, betametazonă), cutanat (clobetazol propionat, metilprednisolon aceponat, betametazonă dipropionat, fluocinolon, triamcinolon), intranasal (mometazonă furoat), inhalator (beclometazonă dipropionat, fluticazonă propionat, budesonidă), intrarectal (budesonidă) (Cristea *et al.*, 2006; Stewart, 2015; Adcock, 2016).

Durata de acțiune

În funcție de timpul în care ACTH este supresat după o doză echivalentă cu 50 mg de prednison, aceste medicamente se clasifică în: glucocorticoizi cu durată scurtă de acțiune (8-12 ore): hidrocortizon (cortizol), cortizon; glucocorticoizi cu durată intermediară de acțiune (12-36 ore): prednison, prednisolon, metilprednisolon, triamcinolon; glucocorticoizi cu durată lungă de acțiune (36-72 ore): betametazonă și dexametazonă (Liu *et al.*, 2013; Bonaventura, 2018).

Farmacocinetica

Spre deosebire de GC naturali care circulă în sânge legați de proteine (CBG și albumina), cei sintetici au afinitate scăzută pentru CBG. Astfel că aceștia circulă în sânge fie în formă nelegată, liberă (30%), fie legați de albumină (70%) (Stewart, 2015; L. Nieman, 2019a) Excepția o reprezintă prednisolonul, care are jumătate din afinitatea cortizolului pentru CBG și de 10 ori mai crescută comparativ cu cea a prednisonului (Boudinot, 1984; Czock *et al.*, 2005; Stewart, 2015). Farmacocinetica prednisonului și a prednisolonului depinde de doză, pentru că legarea de proteine este non-liniară (Czock *et al.*, 2005).

1.4. Receptorul glucocorticoid

GC sunt molecule lipofile și pot difuza liber prin membrana celulară pentru a ajunge în citoplasmă (Vandewalle *et al.*, 2018). Atât GC naturali (cortizol uman și corticosterona la rozătoare), cât și cei sintetici, își exercită efectele prin legarea de receptorul glucocorticoid (RG), o proteină cu mai multe domenii, care se găsește în stare inactivă în citoplasmă, legată de proteine *chaperone* (hsp 90, hsp 70 și p23) și de imunofiline din familia FK506 (Pratt, 1997; Oakley, 2013). În interiorul acestui complex proteic, RG este protejat de degradare și îi este stimulată afinitatea pentru ligand (Vandewalle *et al.*, 2018). RG este exprimat în toate țesuturile umane (Kino, 2011).

Activitatea antiinflamatorie a GC se desfășoară la nivel molecular prin mecanisme genomice (transactivare și transrepreziune) și prin mecanisme non-genomice (Stahn, 2008; Spies *et al.*, 2011).

Transactivarea înseamnă activarea transcripției genelor care codifică sinteza unor proteine antiinflamatorii și presupune interacțiunea RG sub formă de dimer cu ADN (P. J. Barnes, 2006a; Okano, 2009; Baschant, 2010; Ratman *et al.*, 2013). Transactivarea poate influența reglarea genelor metabolice (expresia unor enzime din gluconeogeneză), astfel că influențează și apariția efectelor adverse, dintre care unele similare celor din boala Cushing (hiperglicemie, steatoză hepatică, insulino-rezistență și obezitate centrală (Ratman *et al.*, 2013; Greulich *et al.*, 2016).

Transrepreziunea se referă la inhibarea transcripției genelor care codifică sinteza unor proteine inflamatorii (citokine ca interleukina (IL) IL1, IL2, IL6, factorul de necroză

tumorală (*tumor necrosis factor- α* ; TNF- α), interferon γ (IFN- γ), prostaglandine)), fără legătură directă dintre RG și ADN (P. J. Barnes, 2006a; Okano, 2009; Baschant, 2010; Ratman *et al.*, 2013). Astfel, prin transrepreziune este inhibată activitatea factorului nuclear NF- κ B și a proteinei activatoare-1 *AP-1*, care sunt factori de transcripție cu rol esențial în stimularea expresiei genelor inflamatorii (Ratman *et al.*, 2013).

1.5. Acțiunile cortizolului

Cortizolul acționează pe hepatocit, celule inflamatorii, macrofag, la nivel muscular, respirator, nervos, cardio-vascular, pe țesutul adipos periferic și pe sistemul imun (Kadmiel, 2013; Greulich *et al.*, 2016).

1.6. Reacții adverse induse de administrarea glucocorticoizilor

Apariția reacțiilor adverse depinde de modul de administrare, de durata tratamentului și de doza aleasă. În funcție de durată, o perioadă sub 3 luni corespunde unui tratament pe termen scurt, între 3-6 luni unui tratament pe termen mediu, iar peste 6 luni se consideră tratament pe termen lung (cronic) (Panoulas *et al.*, 2008).

Efectele adverse pot afecta aproape toate organele corpului și pot fi clasificate în: efecte metabolice și endocrine (hiperglicemia, toleranța alterată la glucoză, diabetul zaharat, creșterea în greutate, obezitatea centrală, dislipidemia), efecte digestive (risc crescut de sindrom dispeptic, gastrită, ulcer gastric cu complicații, steatoză hepatică, steatoză pancreatică), efecte cardiovasculare (risc crescut de hipertensiune arterială, ateroscleroza, tulburările de ritm cardiac, insuficiența cardiacă și boala cardiacă ischemică), efecte dermatologice (vergeturi, atrofie cutanată, erupții de tip rozacee, dermatită periorală, erupții acneiforme, pseudocicatrici, purpură, echimoze), efecte oftalmologice (cataracta subcapsulară posterioară, creșterea presiunii intraoculare ce poate determina glaucom și exoftalmia), efecte osoase și musculare (osteoporoza, osteonecroza, fracturile osoase, miopatie), efecte renale, efecte neuro-psihiice (tulburările de somn, anxietatea, iritabilitatea, depresia, afectarea memoriei, psihoza), efecte pe sistemul imun (risc crescut de infecții), efecte hematologice (leucocitoză cu neutrofilie, nivel seric scăzut al eozinofilelor, nivel seric scăzut al monocitelor și al limfocitelor), supresia axului hipotalamo-hipofizo- suprarenalian.

2. VITAMINA E

2.1. Generalități și structură chimică

Vitamina E este o vitamină liposolubilă, care a fost izolată pentru prima dată în 1922 de către H. Evans și K. Bishop. Aceasta este considerată un factor important pentru reproducere și fertilitate (Evans and Bishop, 1922; S. K. Wong, *et al.*, 2017).

Sinteza acestei vitamine este realizată de către plante, pornind de la acidul homogentisic (Cahoon *et al.*, 2003). Se cunosc opt analogici chimici ai vitaminei E: patru tocoferoli (α , β , γ și δ - tocoferol) și patru tocotrienoli (α , β , γ și δ - tocotrienol). Structura tuturor formelor de vitamina E are la baza un inel cromanol și o catenă laterală cu 16 atomi de C, de tip fitil. Tocoferolii sunt compuși saturați, în timp ce tocotrienolii sunt nesaturați, având în structură trei legături duble. Analogii α , β , γ și δ se diferențiază prin poziția și numărul de grupări metil (CH₃) atașate inelului cromanol, astfel: α : 5,7,8 trimetil; β : 5, 8 dimetil; γ : 7, 8 dimetil; δ : 8 metil (Aggarwal *et al.*, 2010; Jiang, 2014).

În țesuturi, predomină α -tocoferolul și apoi γ -tocoferolul (Jiang, 2014). Se consideră că α -tocoferolul are cea mai mare activitate biologică și că este forma care predomină în corp (Suskind, 2009; Jiang, 2014). Aportul optim de α -tocoferol din dietă este de 15 mg/zi (echivalentul a 35 μ mol/zi (National Institutes of Health, 2019).

2.2. Metabolismul vitaminei E

Toate formele de vitamină E provenite din alimentație sunt absorbite la nivelul enterocitului și sunt transportate prin chilomicroni (alături de trigliceride, fosfolipide și colesterol), având ca destinație ficatul (Brigelius-Flohé, 1999; Manor, 2007; Traber, 2007; Traber, 2008; Jiang, 2014). La nivel hepatic, există proteina transportoare α -TTP, care împreună cu ABCA1 (*ATP-binding cassette transporter 1*) încorporează vitamina E în VLDL (*very low-density lipoproteins*, lipoproteine cu densitate foarte scăzută) via torentul sangvin, având țesuturile extrahepatice drept stație finală (Brigelius-Flohé, 1999; Manor, 2007; Traber, 2007; Traber, 2008; Jiang, 2014).

2.3. Rolurile vitaminei E

Studiile au dovedit că vitamina E are rol antioxidant, antiinflamator, de combatere a obezității și a unor efecte strâns asociate acesteia (antihiperglicemic, antihipertensiv și antilipidic) (S. K. Wong, *et al.*, 2017; W. Y. Wong *et al.*, 2017). Vitamina E s-a dovedit benefică prin asocierea cu antiinflamatoare non-steroidiene (Steiner, 1995; Sugimoto *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2009). De asemenea, poate ajuta conducerea nervoasă (Cynamon *et al.*, 1988; Okebukola, 2014).

Reacții biochimice privind rolul antioxidant al vitaminei E

Vitamina E are rol antioxidant și reprezintă prima linie de apărare împotriva peroxidării acizilor grași. Aceasta împiedică formarea de radicali liberi în membranele celulare ale unor țesuturi (eritrocite și aparat respirator). Aceste țesuturi sunt expuse la presiuni ridicate ale O₂ (Mohora, 2019b). În ceea ce privește rolul antiinflamator, diferitele forme de vitamină E inhibă căi de semnalizare proinflamatorii de tipul NF-κ B and STAT3/6 (Jiang, 2014).

2.4. Vitamina E și sindromul metabolic

Sindromul metabolic reprezintă o asociere între obezitate, dislipidemie, hiperglicemie și hipertensiune, cu efecte negative asupra sănătății umane (Alberti *et al.*, 2009). O dieta hiperlipidică, hipercalorică poate declanșa apariția obezității și a insulinorezistenței, atât la animale, cât și la oameni. Astfel, au fost studiate efectele administrării vitaminei E pe model animal și uman cu sindrom metabolic. Beneficiile pe componentele sindromului metabolic se explică în principal prin reducerea stresului oxidativ și a inflamației.

2.5. Vitamina E și administrarea de glucocorticoizi

În literatură există doar câteva studii în care s-a utilizat vitamina E pentru a preveni sau trata efectele adverse induse de glucocorticoizii sistemici.

Pornind de la ideea conform căreia glucocorticoizii cresc activitatea arginazei hepatice (enzimă implicată în sinteza ureei), un grup de cercetători a arătat că suplimentarea cu vitamina E la șobolani Wistar tratați cu prednisolon a prevenit acest afect

(Erişir *et al.*, 2003). Un studiu pe șobolani Wistar femele a avut drept rezultat faptul că administrarea vitaminei D și a vitaminei E (α -tocoferol) s-a opus efectelor imunosupresoare ale prednisolonului, îmbunătățind funcția fagocitară (Shymanskyy *et al.*, 2016). O echipa de cercetători a dovedit că un amestec de vitamină E și C a redus insulinorezistența indusă de administrarea glucocorticoidului (Williams *et al.*, 2012). Vitamina E cu rol antioxidant a redus stresul oxidativ la șobolani care au primit corticosteronă (Ohtsuka *et al.*, 1998).

3. NOȚIUNI RELEVANTE DE NANOMEDICINĂ

3.1. Introducere

Nanotehnologia are la bază folosirea unor nanomateriale cu dimensiune cuprinsă între 0.1-100 nm (Lü *et al.*, 2009). Folosirea nanotehnologiei în domeniul medical, cu scopul de îmbunătăți metodele de tratament și de diagnostic, a dus la apariția unei subramuri, numită nanomedicină (Lü *et al.*, 2009). Prin aceasta se pun bazele descoperirii unor metode inovatoare privind sistemele de administrare a tratamentelor. De asemenea, cu ajutorul nanoparticulelor pot fi livrate în organism substanțe de contrast care să crească acuratețea unor tehnici de diagnostic.

În funcție de conținut, nanomaterialele pot fi împărțite în patru categorii: pe bază de carbon, pe bază de metale, pe bază de polimeri sau pe bază de amestecuri (Lü *et al.*, 2009). Dintre aceste nanomateriale fac parte nanoparticulele, nanosenzorii, nanofirele și nanofibrele (Lü *et al.*, 2009).

3.2. Nanoparticulele PLGA

Dintre polimeri, cele mai studiate au fost nanoparticulele PLGA, care au primit aprobarea FDA (*Food and Drug Administration*) pentru a fi folosite pe subiecți umani (Anderson, 1997; Astete, 2006). Cu ajutorul acestor nanosisteme de transport au fost administrate tratamente oncologice (Avgoustakis *et al.*, 2002; Fonseca, 2002), vaccinuri și tratamente pentru boli inflamatorii, infecții, boli cardiovasculare și ale sistemului nervos (Danhier *et al.*, 2012). Nanoparticulele au avantajul de a fi biodegradabile, astfel că prin

hidroliză se eliberează cei doi monomeri (acidul lactic și acidul glicolic) care vor fi preluați în ciclul Krebs și supuși unor transformări fiziologice și non-toxice pentru organism. De asemenea, sunt stabile în torentul sangvin și nu interferează cu evenimentele trombotice, imunogenice sau inflamatorii (des Rieux *et al.*, 2006; Kumari, 2010). Acestea permit crearea unui sistem de protecție a substanțelor împotriva degradării în mediul biologic și asigură transportul acestora la organele țintă (Danhier *et al.*, 2012).

II. CONTRIBUȚII ORIGINALE

4. IPOTEZA DE LUCRU ȘI OBIECTIVELE STUDIULUI

Prezentul studiu își propune să evalueze efectele adverse metabolice și endocrine induse de folosirea glucocorticoizilor sistemici, folosind ca model experimental animalele de laborator (șobolani Wistar), cât și beneficiile administrării vitaminei E la acestea, cu scopul de a preveni efectele adverse.

Glucocorticoizii sunt medicamente cu rol antiinflamator, antiangiogenic și antiproliferativ, folosite cu succes de peste 50 ani în tratamentul unor afecțiuni. Cu toate acestea, utilizarea prelungită a acestora și într-o doză ridicată se asociază cu nenumărate efecte adverse. Dintre acestea, modificările metabolice și endocrine sunt similare celor descrise la indivizii cu sindrom metabolic, care pot fi cauzate de o alimentație hipercalorică, hiperlipidică și hiperglucidică.

În alegerea remediei care s-ar putea opune efectelor adverse induse de glucocorticoizi, s-a pornit de la premisa că vitamina E și-a dovedit utilitatea în tratamentul obezității și al sindromului metabolic. În plus, aceasta a prevenit anumite efecte adverse induse de antiinflamatoarele non-steroidiene și le-a potențat eficiența terapeutică (Steiner, 1995; Sugimoto *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2009), afirmație care s-a dorit a fi probată și în cazul glucocorticoizilor.

În acest scop, s-a urmărit îndeplinirea următoarelor obiective:

- Administrarea unui glucocorticoid (prednison), pentru a induce efecte adverse metabolice și endocrine.

- Inducerea experimentală a obezității cu ajutorul unei diete hipercalorice, hiperlipidice și hiperglucidice, care să agraveze efectele adverse metabolice și endocrine induse de prednison.
- Administrarea vitaminei E ca remediu, cu scopul de a preveni efectele adverse induse de glucocorticoizi menționate anterior, atât la animale hrănite cu dietă standard, cât și la cele pe dietă hipercalorică, hiperlipidică și hiperglucidică.
- Comparatie între două forme de administrare a vitaminei E (PLGA nanoparticule încărcate cu vitamina E și vitamina E din capsule gelatinoase), cu scopul de a stabili dacă eficiența acestora este similară.
- Evaluarea efectelor prin măsurarea greutateii totale și a unor organe, prin evaluarea unor parametri biochimici în ser și prin evaluarea histopatologică a unor țesuturi.
- Realizarea unor corelații semnificative statistic între diverși parametri analizați în studiu, cu scopul de a stabili dacă există factori cu valoare prognostică.

5. MATERIAL ȘI METODĂ

5.1. Experiment

Studiul a fost efectuat pe 45 de șobolani Wistar masculi, cu vârsta cuprinsă între 10-12 luni, pe o durată de șase săptămâni, la Biobaza Facultății de Medicina din cadrul Universității de Medicina și Farmacie „Carol Davila” din București. Protocolul de desfășurare a întregului studiu experimental a îndeplinit reglementările Directivei 86/609/EEC din 24 noiembrie 1986, privind protecția animalelor folosite în scop experimental sau științific și pe cele ale Directivei 2010/63/EU a Parlamentului European și a Consiliului din 22 septembrie 2010, privind protecția animalelor folosite în scopuri științifice.

Studiul a primit avizul Comisiei de etică a cercetării științifice a Universității de Medicină și Farmacie „Carol Davila” din București (Aviz nr. 134/ 08.08.2017). S-au respectat condiții de habitat standard, ca temperatura cuprinsă între 20-22° C, un ciclu de 12 h zi/12 h noapte, umiditate 50 ± 5%, aer condiționat, încălzire centralizată, ventilație adecvată pentru eliminare noxe, condiții optime de igienă a cuștilor.

Șobolani au fost randomizați în două grupuri în funcție de dietă:

-un grup „standard”, care a primit dietă standard (normocalorică (3.5 kcal/g), normolipidică și normoglicemică).

-un grup „obez”, la care s-a încercat inducerea obezității prin dietă hipercalorică (5.15 kcal/g), hiperlipidică și hiperglicemică. Astfel, pe lângă dieta standard, s-au adăugat 4 g ciocolată albă și 8 g unt 80% grasime).

Concomitent cu dieta, rozătoarele au primit prednison (1 mg/kgc/zi, echivalentul a 0.4 mg/zi pentru un șobolan Wistar de aproximativ 400 g) și remedii cu vitamina E sub două forme: vitamina E încărcate în nanoparticule de tip PLGA și vitamina E din capsule gelatinoase.

Lotul „standard” a fost alcătuit din 20 de șobolani Wistar, care au primit dietă standard (3.5 kcal/zi) și care au fost împărțiți în subloturi a câte cinci șobolani:

-lotul M (martor standard): nu a primit niciun remediu.

-lotul SP (standard cu prednison): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi).

-lotul SN (standard cu vitamina E din nanoparticule): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi) + nanoparticule PLGA încărcate cu vitamina E (1 mg/kgc/zi).

-lotul SE (standard cu vitamina E din capsule): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi) + vitamina E din capsule gelatinoase (1 mg/kgc/zi).

Lotul „obez” a fost alcătuit din 25 de șobolani Wistar, care au primit dietă hipercalorică (5.15 kcal/zi) care și au fost împărțiți în subloturi a câte cinci șobolani:

-lotul OM (martor obez): nu a primit niciun remediu.

-lotul OP (obez cu prednison): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi).

-lotul ON (obez cu vitamina E din nanoparticule): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi) + nanoparticule PLGA încărcate cu vitamina E (1 mg/kgc/zi).

-lotul OE (obez cu vitamina E din capsule): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi) + vitamina E din capsule gelatinoase (1 mg/kgc/zi)

-lotul OD (obez cu doză dublă de vitamina E din nanoparticule): a primit prednison 1 mg/kgc/zi (0.4 mg/zi) + doză dublă de nanoparticule PLGA încărcate cu vitamina E (2 mg/kgc/zi).

Prednisonul folosit în studiu a fost produs de Gedeon Richter Romania S.A (Prednisone-Richter, 5 mg/tabletă). Vitamina E sintetică a provenit din capsule moi,

produsă de SC BIOFARM SA, România. Nanoparticulele polimerice de tip PLGA încărcate cu vitamina E au fost obținute de la Departamentul Ingineriei Biologice și Agricole, Louisiana State University, 70803, Louisiana, Statele Unite ale Americii. Acestea au avut următoarele caracteristici: PLGA nanoparticule polimerice, 95 ± 2 nm, formă sferică, potențial zeta negativ (-38 mV).

După șase săptămâni de tratament, rozătoarele au fost sacrificate prin decapitare (dislocare cervicală) sub anestezie. Cu 30 minute înainte de sacrificare, șobolanii au fost analgosedăți, au fost examinați clinic și cântăriți. După sacrificare, au fost prelevate probe sangvine. Organele interne au fost recoltate și depozitate în soluție de formol 10% în vederea examinării histopatologice.

5.2. Determinări biochimice

Parametrii de biochimie clinică au fost evaluați prin metode standardizate spectrofotometrice folosind un analizor automat A25 și kituri produse de firma SC Biosystems Diagnostic SRL Spania. Au fost dozați următorii parametri serici: cortizolul, vitamina E, glicemia, hemoglobina glicozilată, aspartat-aminotransferaza, alanin-aminotransferaza, fosfataza alcalină, trigliceride serice, colesterol total, HDL- colesterol, albumină, proteine totale, acid uric, uree, sodiu, capacitate antioxidantă totală. Determinarea cortizolului, a vitaminei E și a capacității antioxidante totale s-a realizat prin metodă ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*, test imunosorbent legat de enzimă).

5.3. Examinarea histopatologică a țesuturilor

Principiul tehnicii histopatologice presupune transformarea unui prelevat dintr-un organ sau țesut dintr-o masă tisulară opacă, într-un preparat fin, translucid, ce permite vizualizarea microscopică a detaliilor structurale tisulare și celulare.

5.5. Analiza statistică

Analiza statistică a fost efectuată cu SPSS versiunea 26.00 (IBM SPP, USA).

Valorile au fost exprimate ca mediană și quartile. Pentru a evalua eventuale diferențe statistice între variabilele numerice ale unor grupuri, s-au folosit testele non-parametrice Kruskal-Wallis (urmat de teste de comparație pe perechi) și Mann-Whitney. Rezultatele au

fost reprezentate grafic sub formă de box-plot. O valoare a lui $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic. Valoarea pragului de semnificație statistică a fost ajustată prin corecția Bonferroni pentru teste multiple. Pentru a evalua eventuale corelații între parametri, s-a folosit corelația Pearson. Rezultatele au fost reprezentate grafic sub formă de scatter-plot. O valoare a lui $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Reacțiile chimice au fost scrise cu ajutorul: <https://www.chemdoodle.com>.

7. DISCUȚII

Eficiența vitaminei E în reducerea efectelor adverse induse de administrarea prednisonului

Numeroase studii au arătat că administrarea pe termen lung și în doză crescută a glucocorticoizilor sistemici se asociază cu insulinorezistență, modificări ale insulinemiei (hiperinsulinemie/ hipoinsulinemie), hiperglicemie, diabet zaharat de tip doi, modificări ale profilului lipidic, acumulare lipidică în organele interne (dintre care steatoză hepatică și pancreatică) și afecțiuni cardiovasculare. Insulinorezistența poate fi centrală (ex: în țesutul hepatic) sau periferică (ex: în țesutul adipos sau mușchi scheletic) (Brown, 2008).

Modificări metabolice și endocrine similare pot fi întâlnite și la indivizii cu sindrom metabolic, în contextul unei diete hipercalorice, hiperlipidice și hiperglicidice.

În plus, studiile pe animale de laborator au arătat că atât dietele hipercalorice, cu conținut crescut de grăsimi, cât și cele bogate în carbohidrați, alterează sensibilitatea la insulină, promovează creșterea în greutate, steatoza hepatică și alterarea profilului glucidic și lipidic (Funkat *et al.*, 2004; Tortoriello, 2004; Alcalá *et al.*, 2015)

Beneficiile administrării vitaminei E asupra sindromului metabolic au fost puse în evidență prin numeroase studii atât pe subiecți umani, cât și pe animale de laborator (Devaraj *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010; Hoofnagle *et al.*, 2013; Kim *et al.*, 2013; Alcalá *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015)

De altfel, administrarea prednisonului influențează valoarea greutății totale și a unor organe interne. Pe de alta parte, atât obezitatea cât și sindromul metabolic pot modifica

acești parametri, iar vitamina E s-a dovedit benefică în corectarea acestora din urmă. Această constatare a creat premisa studiului de față.

Influența asupra greutateii totale și a unor organe interne

Martinez *et al* au arătat că administrarea de dexametazonă injectabil intraperitoneal timp de 10 zile la șobolani Wistar masculi în vârstă de 3 luni a determinat o scădere a greutateii totale, comparativ cu grupul placebo (Martínez *et al.*, 2016).

Experimentul lui Nkono ya Nkono și a colaboratorilor săi pe șobolani Wistar masculi care au primit dexametazonă injectabil intraperitoneal timp de 4 săptămâni a dus la concluzia că aceștia au avut o greutate totală mai scăzută față de grupul control (Nkono Ya Nkono *et al.*, 2014). O scădere a greutateii totale a fost obținută în urma administrării de dexametazonă injectabil intraperitoneal timp de 6 zile (Nagendra Nayak *et al.*, 2017).

Experimentul desfășurat în cadrul acestei lucrări a arătat că șobolanii din lotul standard martor au avut cea mai mare greutate totală dintre cele patru loturi, în timp ce rozătoarele tratate cu prednison și vitamina E din capsule au avut cea mai scăzută valoare a greutateii totale.

Greutatea hepatică este influențată de perioada de administrare. Astfel, un experiment cu o durată de câteva zile ar determina o greutate hepatică mai crescută în loturile tratate cu glucocorticoid sistemic (prin inducția enzimelor hepatice și acumulare de glicogen), în timp ce administrarea cronică se asociază cu scăderea greutateii hepatice (Man *et al.*, 2002; Jackson *et al.*, 2008).

Experimentul desfășurat în cadrul acestei lucrări arată că șobolanii din lotul standard martor au avut cea mai mare greutate hepatică dintre cele patru loturi, în timp ce la rozătoarele tratate cu prednison și vitamina E din capsule s-a înregistrat cea mai scăzută valoare. Astfel, în mod similar modificărilor greutateii totale în lotul standard, administrarea de vitamină E a accentuat reducerea greutateii hepatice.

În grupul hrănit cu dietă hiperlipidică/hipercalorică se observă că administrarea prednisonului a dus la scăderea greutateii hepatice, în timp ce vitamina E a prevenit acest efect (efect mai puternic la PLGA-nanoparticule față de capsule).

Experimentul actual arată că administrarea prednisonului a dus la scăderea greutateii splinei în loturile pe dietă hipercalorică.

De asemenea, studiul actual dovedește că prednisonul poate agrava depozitul de grăsime viscerală la animalele pe dietă standard, efect care poate fi contracarat de administrarea de vitamină E (efect superior din capsule față de PLGA nanoparticule).

Influența asupra parametrilor biochimici

Vitamina E serică

Experimentul actual arată că suplimentarea cu vitamina E duce la creșterea nivelului seric al acesteia.

Cortizolul seric

Studiul actual demonstrează că, în grupul standard, șobolanii tratați doar cu prednison au avut cel mai ridicat nivel al cortizolului seric, iar administrarea vitaminei E a avut efect benefic de limitare a creșterii cortizolului seric, fără a se putea dovedi o diferență între cele două forme de administrare (PLGA nanoparticule și capsule).

În grupul obezilor, administrarea prednisonului a dus la valori mai crescute ale cortizolului seric comparativ cu martorii. Surprinzător în schimb, șobolanii obezi tratați cu doză dublă de vitamină E sub formă de PLGA nanoparticule au avut cel mai ridicat nivel al cortizolului seric, care poate fi interpretat ca un efect negativ și atribuit toxicității vitaminei E în doză crescută.

Influența asupra altor parametri serici

Un experiment a pus în evidență faptul că rozătoarele Wistar tratate cu glucocorticoizi vs. grupul control au avut valori mai crescute ale următorilor parametri biochimici: glicemie, trigliceride, colesterol total, ALT, AST, bilirubina, creatinină, uree (Nkono Ya Nkono *et al.*, 2014). Modificări ale profilului lipidic au fost observate într-un alt experiment (Nagendra Nayak *et al.*, 2017).

Experimentul desfășurat în cadrul acestei lucrări arată efectul benefic, protector al vitaminei E sub formă de PLGA nanoparticule în limitarea creșterii ALT și a colesterolului seric total induse de prednison la animalele standard.

În conformitate cu rezultatele studiilor anterioare, în grupul standard pe prednison s-a înregistrat o creștere importantă a ALT, a TGR și a colesterolului seric total comparativ cu martorii. În mod neașteptat, șobolanii care au primit remediu din capsule au avut trigliceride serice ridicate.

Se remarcă rolul benefic, hipouricemiant al PLGA nanoparticulelor încărcate cu vitamina E. De asemenea, în grupul tratat doar cu prednison, capacitatea antioxidantă totală a fost scăzută, iar vitamina E, prin efectul antioxidant, a crescut nivelul capacității antioxidante totale în cele două grupuri sub tratament (eficiență similară între cele două forme de administrare).

La șobolanii Wistar pe dietă hiperlipidică/hipercalorică/hiperglucidică se remarcă hipertrigliceridemie, cu niveluri crescute la cei tratați doar cu prednison. Vitamina E sub formă de PLGA nanoparticule a avut efect de prevenire a creșterii TGR serice (valori aproape ca la martorii obezi), dar dublarea dozei nu a avut același efect pozitiv. Capsulele, în schimb, au agravat hipertrigliceridemia.

Nivelul colesterolului seric total a fost mai ridicat în grupurile care au primit și prednison. Vitamina E sub formă de PLGA nanoparticule în doză dublă a accentuat creșterea colesterolului seric.

În ceea ce privește influența dietei hipercalorice/ hiperlipidice/ hiperglucidice, rezultatele acestui studiu sunt în conformitate cu cele din literatura de specialitate. Astfel, șobolanii obezi au avut un depozit de grăsime viscerală mai important decât grupul pe dietă standard. În plus, dieta obezogenă a dus la niveluri mai ridicate ale glicemiei, hemoglobinei glicozilate, fosfatazei alcaline, trigliceridelor serice, acidului uric. Nivelul seric al vitaminei E a fost mai redus la obezi comparativ cu grupul standard. Contrar așteptărilor, colesterolul seric total și ureea au fost mai crescute la grupurile standard comparativ cu loturile obeze.

În studiul prezentat, referitor la grupul pe dietă standard, se evidențiază o asocieră negativă între nivelul cortizolului seric și valoarea greutateii ficatului și a pancreasului. Cu alte cuvinte, cu cât crește nivelul cortizolului, cu atât se observă o reducere a greutateii hepatice și pancreatice, rezultate care sunt în concordanță cu publicațiile anterioare. În plus, se evidențiază o corelație pozitivă între nivelul cortizolului seric și cel al trigliceridelor serice, al colesterolului seric total și al hemoglobinei glicozilate. Efectul protector al vitaminei E reiese din corelația negativă dintre nivelul său seric și greutatea grăsimii viscerale. De asemenea, nivelul ALT se corelează pozitiv cu greutatea totală. Cu cât sunt mai mari TGR serice și hemoglobina glicozilată, cu atât se observă o reducere a

dimensiunii hepatice. Nivelul glicemiei s-a corelat pozitiv cu nivelul hemoglobinei glicozilate.

Și la șobolanii pe dietă grasă se remarcă atât o asociere negativă între nivelul cortizolului seric și greutatea hepatică, cât și o asociere pozitivă între cortizolul seric și trigliceridele serice și între cortizolul seric și colesterolul seric total. În plus, o greutate hepatică scăzută se asociază cu ALT, TGR și colesterol seric total crescute. Există o corelație negativă între greutatea pancreatică și glicemie, și respectiv între greutatea pancreatică și hemoglobină glicozilată.

Foarte important, indiferent de dietă, nivelul glicemiei s-a corelat pozitiv cu nivelul hemoglobinei glicozilate.

Influența asupra aspectului histopatologic

NAFLD (*nonalcoholic fatty liver disease*/ boala ficatului gras non-alcoolic) este în strânsă legătură cu insulino-rezistența, cu obezitatea, toleranța alterată la glucoză, cu sindromul metabolic. Afectarea hepatică poate să varieze de la simple depozite adipoase în ficat (ficatul gras), la steatohepatită non-alcoolică, la fibroză și se poate ajunge în cazuri extreme la ciroză hepatică (Asai *et al.*, 2014).

În mod similar, NAFPD (*nonalcoholic fatty pancreas disease*/ boala pancreasului gras non-alcoolic) reprezintă acumulare adipoasă în pancreas, în asociere cu sindromul metabolic și cu obezitatea, care poate să determine modificări inflamatorii pancreatice, fibroză și în cazuri extreme neoplasm pancreatic (Tariq *et al.*, 2016). Studiul prezentei lucrări a arătat că, în grupul pe dietă standard, administrarea prednisonului nu a influențat aspectul histopatologic al ficatului.

În schimb, în grupul pe dietă hiperlipidică/hipercalorică, prednisonul a agravat afectarea hepatică indusă de dietă (a crescut gradul hepatopatiei și al steatozei și a determinat necroză tisulară).

În același timp, administrarea de PLGA-nanoparticule încărcate cu vitamina E a avut rol benefic pe țesutul hepatic, prevenind efectele negative induse de dieta hipercalorică și de prednison (a prevenit inflamația, necroza și steatoza). Cu alte cuvinte, aspectul histopatologic al ficatului în grupul cu PLGA-nanoparticule a fost mai normal decât la martorul obez.

Deși vitamina E sub formă de capsule a prevenit modificările hepatice induse de glucocorticoidul sistemic, modificările țesutului hepatic au fost similare cu cele descrise în grupul martor obez, astfel că efectul benefic a fost inferior celui determinat de PLGA-nanoparticule încărcate cu vitamina E. În plus, vitamina E sub formă de capsule nu a limitat steatoza hepatică.

Cu toate că doza dublă de PLGA-nanoparticule încărcate cu vitamina E a prevenit modificările hepatice induse de prednison, a agravat steatoza hepatică.

În ceea ce privește efectul asupra țesutului pancreatic în grupul standard, administrarea de prednison a determinat o lipidoză ușoară, care cel mai probabil reprezintă substratul modificărilor inflamatorii moderate observate în acest grup. Se pare că ambele forme de vitamină E administrate au prevenit efectele negative ale glucocorticoidului.

În grupul martor hrănit cu dietă hipercalorică/hiperlipidică/hiperglucidică s-au obținut cele mai severe modificări histopatologice ale țesutului pancreatic, caracterizate prin arhitectura generală parțial conservată, modificări inflamatorii moderate și o lipidoză moderat-severă.

Deși pe ficat s-a dovedit că prednisonul a avut efect negativ, agravând hepatopatia indusă de dietă, pe pancreasul obezilor a avut efect favorabil, de scădere a inflamației pancreatice induse de dietă. Toate grupurile obeze care au primit prednison au prezentat modificări inflamatorii pancreatice de intensitate cel puțin minimă.

În plus, prednisonul nu a agravat depunerea lipidică tisulară pancreatică așa cum s-a întâmplat la nivel hepatic, astfel că lipidoza pancreatică în grupul martor obez și în lotul obez sub tratament cu prednison a fost similară. Și la nivelul țesutului pancreatic vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule și-a dovedit eficiența, scăzând gradul lipidozei pancreatice indusă experimental.

În schimb, vitamina E din capsule nu a avut efect de prevenire a acumulării lipidice induse de dietă, observându-se o lipidoză similară în grupul care a primit doar prednison și în grupul tratat cu vitamina E din capsule.

Surprinzător, cel mai bun efect terapeutic pe țesutul pancreatic s-a obținut prin dublarea dozei de PLGA-nanoparticule încărcate cu vitamina E, care a scăzut semnificativ lipidoza.

8. CONCLUZII

ÎN GRUPUL „STANDARD”

- Administrarea de prednison a agravat depozitul de grăsime viscerală, efect care a fost contracarat de vitamina E din capsule.
- Cel mai ridicat nivel al cortizolului seric a fost obținut în grupul tratat cu prednison fără remedii, iar vitamina E a limitat această creștere, fără a se putea dovedi o diferență între cele două forme de administrare.
 - Suplimentarea cu vitamină E a determinat niveluri crescute ale acesteia în ser.
 - Administrarea de prednison a alterat profilul lipidic (colesterol seric total și TGR serice mai crescute) și a indus citoliza hepatică (ALT crescut), iar vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule a limitat creșterea ALT și a colesterolului seric total.
 - Vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule a avut efect hipouricemiant.
 - Ambele forme de administrare ale vitaminei E au avut efect antioxidant, dovedit prin creșterea nivelului capacității antioxidante totale.
 - Se evidențiază o asociere negativă între nivelul cortizolului seric și valoarea greutateii ficatului și a pancreasului.
 - Există o corelație pozitivă între nivelul cortizolului seric și cel al trigliceridelor serice, al colesterolului seric total și al hemoglobinei glicozilate.
 - Există o corelație negativă dintre nivelul vitaminei E serice și greutatea grăsimii viscerale.
 - Există o asociere negativă între greutatea totală și glicemie.
 - Există o asociere negativă între valoarea greutateii hepatice și nivelul trigliceridelor serice și între valoarea greutateii hepatice și hemoglobina glicozilată.
 - Nivelul glicemiei s-a corelat pozitiv cu nivelul hemoglobinei glicozilate.
 - Prednisonul nu a modificat structura normală a ficatului.
 - Prednisonul a determinat la nivel pancreatic lipidoză ușoară și afectare pancreatică moderată, care au fost prevenite cu succes de ambele forme de vitamină E.

Efecte controversate

- Vitamina E din capsule gelatinoase a accentuat scăderea în greutate indusă de prednison.
- Vitamina E din capsule, mai mult decât vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule a accentuat reducerea greutății hepatice indusă de prednison.
- Vitamina E din capsule a determinat niveluri mai crescute ale trigliceridelor serice.
- Asocierea negativă dintre greutatea totală și glicemie, cât și cea dintre cortizol și AST.

ÎN GRUPUL „OBEZ”

- Administrarea de prednison a cauzat reducerea în dimensiune a ficatului, iar vitamina E a prevenit acest efect negativ (PLGA nanoparticule efect superior capsulelor).
- Prednisonul a determinat reducerea în greutate a splinei.
- Grupurile tratate cu prednison au avut valori mai crescute ale cortizolului seric și ale colesterolului seric total.
- Administrarea de glucocorticoid a agravat trigliceridemia indusă experimental, iar vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule a avut efect hipolipemiant.
- Dublarea dozei de PLGA-nanoparticule nu a avut efect hipolipemiant.
- Există o asociere negativă între nivelul cortizolului seric și greutatea hepatică.
- Există o asociere pozitivă între nivelul cortizolului seric și cel al trigliceridelor serice, al colesterolului seric total și al hemoglobinei glicozilate.
- O greutate hepatică scăzută se asociază cu ALT, TGR și colesterol seric total crescute.
- Există o corelație negativă între greutatea pancreatică și glicemie, și respectiv între greutatea pancreatică și hemoglobină glicozilată.
- Nivelul glicemiei s-a corelat pozitiv cu nivelul hemoglobinei glicozilate.

Influența asupra aspectului histopatologic hepatic

- Prednisonul a agravat afectarea hepatică indusă experimental prin dietă (a crescut gradul hepatopatiei și al steatozei și a determinat necroză tisulară).
- Vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule s-a dovedit eficientă în a preveni alterările produse de glucocorticoid și dietă hipercalorică (a scăzut gradul hepatopatiei și a prevenit steatoza și necroza).
- Vitamina E sub formă de capsule a scăzut hepatopatia indusă de prednison, dar efectul a fost inferior celui obținut în urma suplimentării cu PLGA-nanoparticule.
- Vitamina E sub formă de capsule nu a limitat steatoza hepatică.
- Dublarea dozei de PLGA-nanoparticule a avut efect pozitiv, de reducere a gradului de hepatopatie, dar efectul a fost inferior celui obținut în urma suplimentării cu cele două forme de vitamină E.
- Dublarea dozei de PLGA-nanoparticule a avut efect negativ, de agravare a steatozei hepatice.

Influența asupra aspectului histopatologic pancreatic

- În lotul martor hrănit dietă hipercalorică/hiperlipidică/hiperglucidică s-au observat cele mai severe modificări ale țesutului pancreatic, caracterizate prin arhitectura generală parțial conservată, modificări inflamatorii moderate și o lipidoză moderat-severă.
- Prednisonul a avut efect pozitiv, de scădere a inflamației pancreatice induse de dietă.
- Toate grupurile obeze care au primit prednison au prezentat modificări inflamatorii pancreatice de intensitate cel puțin minimă.
- Prednisonul nu a agravat depunerea lipidică tisulară cum s-a întâmplat la nivel hepatic, astfel că lipidoza pancreatică în grupul martor obez și în lotul obez sub tratament cu prednison a fost similară.
- Vitamina E sub formă de PLGA-nanoparticule și-a dovedit eficiența, scăzând gradul lipidozei pancreatice indusă experimental.
- Vitamina E din capsule nu a avut efect de prevenire a acumulării lipidice induse de dietă, observându-se o lipidoză similară în grupul care a primit doar prednison și în grupul tratat cu vitamina E din capsule.

- Cel mai bun efect terapeutic pe țesutul pancreatic s-a obținut prin dublarea dozei de PLGA-nanoparticule încărcate cu vitamina E, care a scăzut semnificativ lipidoza.

Efecte controversate

- Dublarea dozei de PLGA-nanoparticule a avut efect negativ, de creștere a nivelului cortizolului și a colesterolului seric total.
- Capsulele cu vitamină E au agravat hipertrigliceridemia.

Influența dietei hiperlipidice/hipercalorice

- Șobolani obezi au avut un depozit de grăsime viscerală mai important decât grupul pe dietă standard.
- Dieta obezogenă a dus la niveluri mai ridicate ale glicemiei, hemoglobinei glicozilate, fosfatazei alcaline, trigliceridelor serice, acidului uric.
- Contrar așteptărilor, colesterolul seric total și ureea au fost mai crescute la grupurile standard comparativ cu loturile obeze.

CONTRIBUȚII PERSONALE

În urma studierii literaturii naționale și internaționale de specialitate, acesta reprezintă primul studiu în care s-au utilizat două forme de administrare a vitaminei E, cu scopul de a reduce unele efectele adverse induse de folosirea glucocorticoizilor.

De asemenea, un alt element de noutate îl reprezintă folosirea nanotehnologiei, și anume a nanoparticulelor de tip PLGA, care la momentul actual fac studiul cercetărilor internaționale și care oferă rezultate promițătoare în multiple domenii, inclusiv în cel al medicinei.

În plus, s-a încercat folosirea a două tipuri de hrană, pentru a vedea dacă alimentația influențează efectele adverse induse de administrarea glucocorticoizilor.

Limitările studiului constau în numărul scăzut de animale în lotul experimental, care a făcut ca puterea statistică să fie scăzută în ceea ce privește diferențele observate între grupuri.

În acest studiu au fost obținute rezultate care susțin folosirea vitaminei E în reducerea efectelor adverse induse de glucocorticoizii sistemici. Sunt necesare studii suplimentare atât pe model animal, cât și pe model uman, care să se focalizeze pe ambele forme de administrare folosite în acest studiu.

Astfel că, pentru orice substanță medicamentoasă sunt descrise efecte favorabile sau mai puțin favorabile, care țin de substanța în sine sau de vehicul, iar apelarea la o astfel de metodă terapeutică trebuie să aibă în vedere toate aceste aspecte referitoare la tratament și să pună în balanță beneficiile și riscurile obținute de fiecare pacient în parte.

Astfel, această lucrare aduce o contribuție importantă și deschide noi perspective de cercetare.

BIBLIOGRAFIE

Adcock, I. M. and Mumby, S. (2016) 'Glucocorticoids.', *Handbook of Experimental Pharmacology*, 237, pp. 1–26. doi: 10.1007/164_2016_98.

Aggarwal, B. B. *et al.* (2010) 'Tocotrienols, the vitamin E of the 21st century: Its potential against cancer and other chronic diseases', *Biochemical Pharmacology*, 80(11), pp. 1613–31. doi: 10.1016/j.bcp.2010.07.043.

Aghadavod Esmat, Soleimani Alireza, Gholamali Hamidi, Keneshlou Fariba, Heidari Akbar, A. Z. (2018) 'Effects of High-dose Vitamin E Supplementation on Markers of Cardiometabolic Risk and Oxidative Stress in Patients with Diabetic Nephropathy', *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 12(3), pp. 156–62.

Alberti, K. G. M. M. *et al.* (2009) 'Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International', *Circulation*, 120, pp. 1640–1645. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644.

Alcalá, M. *et al.* (2015) 'Vitamin E reduces adipose tissue fibrosis, inflammation, and oxidative stress and improves metabolic profile in obesity', *Obesity*, 23(8), pp. 1598–606. doi: 10.1002/oby.21135.

Anderson, J. M. and Shive, M. S. (1997) 'Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres', *Advanced Drug Delivery Reviews*, 28(1), pp. 5–24. doi: 10.1016/S0169-409X(97)00048-3.

Astete, C. E. and Sabliov, C. M. (2006) 'Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles', *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 17(3), pp. 247–89. doi: 10.1163/156856206775997322.

Avgoustakis, K. *et al.* (2002) 'PLGA-mPEG nanoparticles of cisplatin: in vitro nanoparticle degradation, in vitro drug release and in vivo drug residence in blood properties', *J. Control. Release*, 79(1–3), pp. 123–35. doi: 10.1016/s0168-3659(01)00530-2.

Barnes, P. J. (2006 a) 'Corticosteroid effects on cell signalling', *European Respiratory Journal*, 27(2), pp. 413–26. doi: 10.1183/09031936.06.00125404.

Barnes, Peter J. (2006 b) 'Corticosteroids: The drugs to beat', *European Journal of Pharmacology*, 533(1–3), pp. 2–14. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.12.052.

Barnes, P. J. (2010) 'Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation', *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 120(2–3), pp. 76–85. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.02.018.

Baschant, U. and Tuckermann, J. (2010) 'The role of the glucocorticoid receptor in inflammation and immunity', *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 120(2–3), pp. 69–75. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.03.058.

Bonaventura, A. and Montecucco, F. (2018) 'Steroid-induced hyperglycemia: An underdiagnosed problem or clinical inertia? A narrative review', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 139, pp. 203–220. doi: 10.1016/j.diabres.2018.03.006.

Boudinot, F. D. and Jusko, W. J. (1984) 'Plasma protein binding interaction of prednisone and prednisolone', *Journal of Steroid Biochemistry*, 21(3), pp. 337–9. doi: 10.1016/0022-4731(84)90288-7.

Brigelius-Flohé, R. B. F. and Traber, M. G. (1999) 'Vitamin E: Function and metabolism', *FASEB Journal*, 13(10), pp. 1145–55. doi: 10.1096/fasebj.13.10.1145.

Brown, M. S. and Goldstein, J. L. (2008) 'Selective versus Total Insulin Resistance: A Pathogenic Paradox', *Cell Metabolism*, 7(2), pp. 95–96. doi: 10.1016/j.cmet.2007.12.009.

Buttgereit, F. *et al.* (2002) 'Standardised nomenclature for glucocorticoid dosages and glucocorticoid treatment regimens: Current questions and tentative answers in rheumatology', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 61(8), pp. 718–22. doi: 10.1136/ard.61.8.718.

Cahoon, E. B. *et al.* (2003) 'Metabolic redesign of vitamin E biosynthesis in plants for tocotrienol production and increased antioxidant content', *Nature Biotechnology*, 21(9), pp. 1082–7. doi: 10.1038/nbt853.

Cristea, A. *et al.* (2006) 'Sistemul endocrin', in *Tratat de farmacologie*. Editia I. Bucuresti: Editura Medicala, pp. 723–763.

Cynamon, H. A. *et al.* (1988) 'Effect of vitamin E deficiency on neurologic function in patients with cystic fibrosis', *The Journal of Pediatrics*, 113(4), pp. 637–40. doi: 10.1016/S0022-3476(88)80371-8.

Czock, D. *et al.* (2005) 'Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered glucocorticoids', *Clinical Pharmacokinetics*, 44(1), pp. 61–98. doi: 10.2165/00003088-200544010-00003.

Danhier, F. *et al.* (2012) 'PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications', *Journal of Controlled Release*, 161(2), pp. 505–22. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.01.043.

Devaraj, S. *et al.* (2008) 'Gamma-tocopherol supplementation alone and in combination with alpha-tocopherol alters biomarkers of oxidative stress and inflammation in subjects with metabolic syndrome', *Free Radical Biology and Medicine*, 44(6), pp. 1203–8. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.12.018.

Diederich, S. *et al.* (1998) 'Metabolism of synthetic corticosteroids by 11 β -hydroxysteroid- dehydrogenases in man', *Steroids*, 63(5–6), pp. 271–7. doi: 10.1016/S0039-128X(98)00039-7.

Dreher, M. L. (2012) 'Pistachio nuts: Composition and potential health benefits', *Nutrition Reviews*, 70(4), pp. 234–40. doi: 10.1111/j.1753-4887.2011.00467.x.

Erişir, M. *et al.* (2003) 'Effects of dietary vitamin E and selenium on arginase activity in the liver, kidneys, and heart of rats treated with high doses of glucocorticoid', *Cell Biochemistry and Function*, 21(4), pp. 331–5. doi: 10.1002/cbf.1032.

Evans, H. M. and Bishop, K. S. (1922) 'On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction.', *Science*, 56, pp. 650–651. doi: 10.1126/science.56.1458.650.

Fonseca, C., Simões, S. and Gaspar, R. (2002) 'Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles: Preparation, physicochemical characterization and in vitro anti-tumoral activity', *Journal of Controlled Release*, 83(2), pp. 273–286. doi: 10.1016/S0168-3659(02)00212-2.

Funkat, A. *et al.* (2004) 'Metabolic Adaptations of Three Inbred Strains of Mice (C57BL/6, DBA/2, and 129T2) in Response to a High-Fat Diet', *The Journal of Nutrition*, 134(12), pp. 3264–3269. doi: 10.1093/jn/134.12.3264.

Greulich, F. *et al.* (2016) 'There goes the neighborhood: Assembly of transcriptional complexes during the regulation of metabolism and inflammation by the glucocorticoid receptor', *Steroids*, (114), pp. 7–15. doi: 10.1016/j.steroids.2016.05.003.

Hasona, N. A. *et al.* (2017) 'Vitis vinifera extract ameliorate hepatic and renal dysfunction induced by dexamethasone in albino rats', *Toxics*, 5(2), p. E11. doi: 10.3390/toxics5020011.

Hoofnagle, J. H. *et al.* (2013) 'Vitamin e and changes in serum alanine aminotransferase levels in patients with non-alcoholic steatohepatitis', *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 38(2), pp. 134–43. doi: 10.1111/apt.12352.

Jackson, E. R. *et al.* (2008) 'The early effects of short-term dexamethasone administration on hepatic and serum alanine aminotransferase in the rat', *Drug and Chemical Toxicology*, 31(4), pp. 427–445. doi: 10.1080/01480540802390247.

Jiang, Q. *et al.* (2009) 'A combination of aspirin and γ -tocopherol is superior to that of aspirin and α -tocopherol in anti-inflammatory action and attenuation of aspirin-induced adverse effects', *Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(11), pp. 894–900. doi: 10.1016/j.jnutbio.2008.08.004.

Jiang, Q. (2014) 'Natural forms of vitamin E: Metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy', *Free Radical Biology and Medicine*, 72, pp. 76–90. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035.

Kadmiel, M. and Cidłowski, J. A. (2013) 'Glucocorticoid receptor signaling in health and disease', *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(9), pp. 518–530. doi: 10.1016/j.tips.2013.07.003.

Kim, D. Y. *et al.* (2013) 'Effects of d- α -tocopherol supplements on lipid metabolism in a high-fat diet-fed animal model', *Nutrition Research and Practice*, 7(6), pp. 481–487. doi: 10.4162/nrp.2013.7.6.481.

- Kim, G. H., Chung, J. W., Lee, J. H., Ok, K. S., Jang, E. S., Kim, J., Shin, C. M., Park, Y. S., Hwang, J. H., *et al.* (2015) 'Effect of vitamin E in nonalcoholic fatty liver disease with metabolic syndrome: A propensity score-matched cohort study', *Clinical and molecular hepatology*, 21(4), pp. 379–86. doi: 10.3350/cmh.2015.21.4.379.
- Kino, T. and Chrousos, G. P. (2011) 'Acetylation-mediated epigenetic regulation of glucocorticoid receptor activity: Circadian rhythm-associated alterations of glucocorticoid actions in target tissues', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 336(1–2), pp. 23–30. doi: 10.1016/j.mce.2010.12.001.
- Kleiman, A. and Tuckermann, J. P. (2007) 'Glucocorticoid receptor action in beneficial and side effects of steroid therapy: Lessons from conditional knockout mice', *Molecular and Cellular Endocrinology*, 275(1–2), pp. 98–108. doi: 10.1016/j.mce.2007.05.009.
- Kumari, A., Yadav, S. K. and Yadav, S. C. (2010) 'Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems', *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 75(1), pp. 1–18. doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.09.001.
- Liu, D. *et al.* (2013) 'A practical guide to the monitoring and management of the complications of systemic corticosteroid therapy', *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 9(1:30). doi: 10.1186/1710-1492-9-30.
- Lü, J. M. *et al.* (2009) 'Current advances in research and clinical applications of PLGA-based nanotechnology', *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 9(4), pp. 325–41. doi: 10.1586/erm.09.15.
- Lu, N. Z. *et al.* (2007) 'Selective Regulation of Bone Cell Apoptosis by Translational Isoforms of the Glucocorticoid Receptor', *Molecular and Cellular Biology*, 27(20), pp. 7143–60. doi: 10.1128/mcb.00253-07.
- Lu, Y. *et al.* (2012) 'Glucocorticoids promote hepatic cholestasis in mice by inhibiting the transcriptional activity of the farnesoid X receptor', *Gastroenterology*, 143(6), pp. 1630–1640. doi: 10.1053/j.gastro.2012.08.029.
- Macfarlane, D. P., Forbes, S. and Walker, B. R. (2008) 'Glucocorticoids and fatty acid metabolism in humans: Fuelling fat redistribution in the metabolic syndrome', *Journal of Endocrinology*, 197(2), pp. 189–204. doi: 10.1677/JOE-08-0054.
- Man, W. J. *et al.* (2002) 'Protein expression analysis of drug-mediated hepatotoxicity in the Sprague-Dawley rat', *Proteomics*, 2(11), pp. 1577–1585. doi: 10.1002/1615-9861(200211)2:11.
- Manor, D. and Morley, S. (2007) 'The α -Tocopherol Transfer Protein', *Vitamins and Hormones*, 76, pp. 45–65. doi: 10.1016/S0083-6729(07)76003-X.
- Martínez, B. *et al.* (2016) 'Experimental model of glucocorticoid-induced insulin resistance.', *Acta Cir Bras*, 31(10), pp. 645–649. doi: 10.1590/S0102-865020160100000001.

Miller, W. L. and Auchus, R. J. (2011) 'The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders', *Endocrine Reviews*, 32(1), pp. 81–151. doi: 10.1210/er.2010-0013.

Mohora, M. (2019a) 'Hormoni.', in *Biochimie Medicală*. Ediția a-6-a. Bucuresti: Editura Niculescu, ISBN: 978-973-748-867-1, pp. 487-531.

Mohora, M. (2019b) 'Vitamine.', in *Biochimie Medicală*. Editia a-6-a. Bucuresti: Editura Niculescu, ISBN: 978-973-748-867-1, pp. 100-115.

Nagendra Nayak, I. M. *et al.* (2017) 'Comparison of pioglitazone and metformin efficacy against glucocorticoid induced atherosclerosis and hepatic steatosis in insulin resistant rats', *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(7), pp. FC06-FC10. doi: 10.7860/JCDR/2017/28418.10193.

National Institutes of Health (2019) *Vitamin E*. Available at: <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional/>.

Nieman, L. (2019a) *Pharmacologic use of glucocorticoids*, *UPTODATE*. Available at: [https://www.uptodate.com/contents/pharmacologic-use-of-glucocorticoids?search=pharmacologic use of glucocorticoids&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/pharmacologic-use-of-glucocorticoids?search=pharmacologic+use+of+glucocorticoids&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1) (Accessed: 19 June 2019).

Nkono Ya Nkono, B. L. *et al.* (2014) 'Antihyperglycemic and antioxydant properties of *Alstonia boonei* De Wild. (Apocynaceae) stem bark aqueous extract in dexamethasone-induced hyperglycemic rats', *International Journal of Diabetes Research*, 3(2), pp. 27–35. doi: 10.5923/j.diabetes.20140303.01.

Oakley, R. H. and Cidlowski, J. A. (2013) 'The biology of the glucocorticoid receptor: New signaling mechanisms in health and disease', *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 132(5), pp. 1033–44. doi: 10.1016/j.jaci.2013.09.007.

Ohtsuka, A. *et al.* (1998) 'Vitamin E reduces glucocorticoid-induced growth inhibition and lipid peroxidation in rats', *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 44(2), pp. 237–47. doi: 10.3177/jnsv.44.237.

Okano, M. (2009) 'Mechanisms and clinical implications of glucocorticosteroids in the treatment of allergic rhinitis', *Clinical and Experimental Immunology*. doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.04010.x.

Okebukola, P. O., Kansra, S. and Barrett, J. (2014) 'Vitamin E supplementation in people with cystic fibrosis', *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 12(CD009422). doi: 10.1002/14651858.CD009422.pub2.

Panoulas, V. F. *et al.* (2008) 'Long-term exposure to medium-dose glucocorticoid therapy associates with hypertension in patients with rheumatoid arthritis', *Rheumatology*, 47, pp. 72–75. doi: 10.1093/rheumatology/kem311.

- Pratt, W. B. and Toft, D. O. (1997) ‘Steroid Receptor Interactions with Heat Shock Protein and Immunophilin Chaperones*’, *Endocrine Reviews*, 18(3), pp. 306–60. doi: 10.1210/edrv.18.3.0303.
- Ratman, D. *et al.* (2013) ‘How glucocorticoid receptors modulate the activity of other transcription factors: A scope beyond tethering’, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 380(1–2), pp. 41–54. doi: 10.1016/j.mce.2012.12.014.
- des Rieux, A. *et al.* (2006) ‘Nanoparticles as potential oral delivery systems of proteins and vaccines: A mechanistic approach’, *Journal of Controlled Release*, 116(1), pp. 1–27. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.08.013.
- Shymansky, I. O. *et al.* (2016) ‘Effects of Vitamin D3 and vitamin E on prednisolone-induced alterations of phagocyte function’, *European Review for Medical and Pharmaceutical Sciences*, 20(7), pp. 1379–83.
- Spies, C. M. *et al.* (2011) ‘Glucocorticoids’, *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*, 25(6), pp. 891–900. doi: 10.1016/j.berh.2011.11.002.
- Stahn, C. and Buttgerit, F. (2008) ‘Genomic and nongenomic effects of glucocorticoids’, *Nature Clinical Practice Rheumatology*, 4(10), pp. 525–33. doi: 10.1038/ncprheum0898.
- Steiner, M., Glantz, M. and Lekos, A. (1995) ‘Vitamin E plus aspirin compared with aspirin alone in patients with transient ischemic attacks’, *American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), pp. 1381S–1384S. doi: 10.1093/ajcn/62.6.1381S.
- Stewart, P. and Newell-Price, J. (2015) ‘The adrenal cortex’, in Melmed, S. *et al.* (eds) *Williams Textbook of Endocrinology E-Book*. Elsevier Health Sciences, pp. 490–517.
- Sugimoto, N. *et al.* (2000) ‘Effect of vitamin E on aspirin-induced gastric mucosal injury in rats.’, *Dig Dis Sci*, 45(3), pp. 599–605. doi: 10.1023/a:1005417929009.
- Suskind, D. L. (2009) ‘Nutritional Deficiencies During Normal Growth’, *Pediatric Clinics of North America*, 56(5), pp. 1035–53. doi: 10.1016/j.pcl.2009.07.004.
- Tortoriello, D. V., McMinn, J. and Chua, S. C. (2004) ‘Dietary-Induced Obesity and Hypothalamic Infertility in Female DBA/2J Mice’, *Endocrinology*, 145(3), pp. 1238–1247. doi: 10.1210/en.2003-1406.
- Traber, M. (2012) ‘Vitamin E’, in Erdman, J., Macdonald, I., and Zeisel, S. (eds) *Present knowledge in nutrition: Singapore: International Life Sciences Institute*. 10th Edition. Wiley-Blackwell.
- Traber, M. G. (2007) ‘Vitamin E Regulatory Mechanisms’, *Annual Review of Nutrition*, 27, pp. 347–62. doi: 10.1146/annurev.nutr.27.061406.093819.
- Traber, M. G. *et al.* (2017) ‘Metabolic syndrome increases dietary alpha-tocopherol requirements as assessed using urinary and plasma Vitamin E catabolites: A double-blind, crossover clinical trial’, *American Journal of Clinical Nutrition*, 105(3), pp. 571–579. doi: 10.3945/ajcn.116.138495.

Traber, M. G., Frei, B. and Beckman, J. S. (2008) 'Vitamin E revisited: Do new data validate benefits for chronic disease prevention?', *Current Opinion in Lipidology*, 19(1), pp. 30–8. doi: 10.1097/MOL.0b013e3282f2dab6.

Uhlenhaut, N. H. *et al.* (2013) 'Insights into Negative Regulation by the Glucocorticoid Receptor from Genome-wide Profiling of Inflammatory Cistromes', *Molecular Cell*, 49(1), pp. 158–71. doi: 10.1016/j.molcel.2012.10.013.

Uzu, T. *et al.* (2007) 'Glucocorticoid-induced diabetes mellitus: Prevalence and risk factors in primary renal diseases', *Nephron - Clinical Practice*, 105, pp. c54-7. doi: 10.1159/000097598.

Vandewalle, J. *et al.* (2018) 'Therapeutic Mechanisms of Glucocorticoids', *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 29(1), pp. 42–54. doi: 10.1016/j.tem.2017.10.010.

Veyrat-Durebex, C. *et al.* (2012) 'Central glucocorticoid administration promotes weight gain and increased 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in white adipose tissue', *PLoS ONE*, 7(3), p. e34002. doi: 10.1371/journal.pone.0034002.

Wang, Q. *et al.* (2010) 'Effects of vitamin E on plasma lipid status and oxidative stress in Chinese women with metabolic syndrome', *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*. doi: 10.1024/0300-9831/a000015.

White, P. C. (2002a) 'Synthesis and metabolism of corticosteroids', in Becker, K. L., Kahn, R. C., and Rebar, R. W. (eds) *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. Third Edit. Lippincott Williams & Wilkins Publishers., pp. 612–618.

Williams, D. B. *et al.* (2012) 'Dietary supplementation with vitamin E and C attenuates dexamethasone-induced glucose intolerance in rats', *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 302(1), pp. R49-58. doi: 10.1152/ajpregu.00304.2011.

Wong, S. K., Chin, K. Y., *et al.* (2017) 'Vitamin E as a potential interventional treatment for metabolic syndrome: Evidence from animal and human studies', *Frontiers in Pharmacology*, 8(444). doi: 10.3389/fphar.2017.00444.

Zhao, L. *et al.* (2015) 'Gamma-tocotrienol attenuates high-fat diet-induced obesity and insulin resistance by inhibiting adipose inflammation and M1 macrophage recruitment', *International Journal of Obesity*, 39(3), pp. 438–46. doi: 10.1038/ijo.2014.124.

LISTA CU LUCRĂRI ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

Articole ISI cu factor de impact

- **M Balaban**, B Virgolici, A Dinu, A Totan, D Miricescu, D Stefan, M Greabu, M Mohora. Metabolic parameters in Wistar rats treated with glucocorticosteroids and vitamin E-charged poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles. REVISTA DE CHIMIE (București). 2019; 70 [4]: 1315-1318; Factor de Impact 2018-19: 1.605.
<https://www.revistadechimie.ro/RCRevChimie.asp>.

Articole BDI, B+

- **M. Balaban**, CM Popescu, R. Popescu, G. Turcu, A. Brinzea, RI Nedelcu, A. Dinu, B. Virgolici, M.Mohora. Clinical aspects of cutaneous adverse effects induced by glucocorticosteroids. Acta Medica Transilvanica. 2018; vol.23, no. 4: 28-31; Incadrare B+. <http://www.amtsibiu.ro/arhiva-revista>

Participări la Congrese și Conferințe

- **Balaban M**, Dinu A, Virgolici B, Gagniuc E, Miricescu D, Totan A, Greabu M, Dinu GA, Mohora M. Vitamin E-PLGA-NPs associated to prednisone treatment had hepatoprotective effects in high fat diet Wistar rats (Efectul hepatoprotector al PLGA-NP încărcate cu vitamina E, asociate tratamentului cu prednison la șobolani Wistar hrăniți cu o dietă hiperlipidică). The 3rd Conference of AMLR, 05-07.06.2019, Iași, România.
- **Balaban M**, Dinu A, Virgolici B, Totan A, Miricescu D, Calenic B, Mohora M. Effects of two forms of vitamin E delivery systems in prednisone treated Wistar rats (Efectele administrării de vitamină E în două forme diferite la șobolani Wistar tratați cu prednison). The 2nd National Congress of The Romanian Association of Laboratory Medicine with international participation, 09-11.05.2018, București, România.
- **M. Balaban**, B. Virgolici, R.I. Nedelcu, A. Brinzea, C. Morlova, A.Dinu, M.Mohora. Metabolic syndrome in a patient with chronic psoriasis: case report (Sindrom metabolic la un pacient cu psoriazis vulgar: prezentare de caz). Congress of the University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, the 5th Edition, 29-31.05.2017, București, România.

• **Mihaela Balaban**, Bogdana Vîrgolici, Bogdan Calenic, Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Elvira Gubgeac, Horia Vîrgolici, Maria Greabu, Maria Mohora. Liver and pancreas effects of nano-E charged particles versus fish oil – a comparative experimental study (Efectele particulelor cu nano-E versus cele ale uleiului de pește asupra ficatului și pancreasului- un studiu experimental). The 2nd National Conference of AMLR, 10-13.05.2017, Timișoara, România.

• **Balaban M**, Dinu A, Vîrgolici B, Totan A, Gubgeac E, Miricescu D, Vîrgolici H, Calenic B, Mohora M. Nanoparticles charged with vitamin E in the obese high fat diet wistar rats (Nanoparticule încărcate cu vitamina E administrate la șobolani Wistar obezi hrăniți cu o dietă hiperlipidică). The 11th Anual Congress of Medical Romanian Association (AMR), 20-22.04.2017, București, România.

• Dinu A, Dinu GA, **Balaban M**, Virgolici B, Miricescu D, Totan A, Greabu M, Mohora M. Comparative effect of natural, synthetic vitamin E and vitamin E charged in nanoparticles on visceral fat (Efectul comparativ al vitamin E naturale, sintetice și încărcate în nanoparticule asupra grăsimii viscerale). The 3rd Conference of AMLR, 05-07.06.2019, Iași, România.

• A Dinu, **M Balaban**, B Virgolici, B Calenic, R Barac, I Ionascu, SD Costina, D Miricescu, A Totan, M Mohora. The ocular protective effects of PLGA lutein nanoparticles in the obese Wistar rats treated with systemic glucocorticoids. The 3rd International Conference- New Trends on Sensing-Monitoring- Telediagnosis for Life Sciences NT-SMT-LS. 07-09.09.2017, București, România.

• A. Dinu, **M. Balaban**, B. Virgolici, A. Totan, E. Gubceag. D. Miricescu, H. Virgolici, B. Calenic, M. Mohora. The synergic renoprotective effect of fish oil and nanoparticles charged with vitamin E in the obese high fat diet Wistar rats. Congress of the University of Medicine and pharmacy Carol Davila, Bucharest, the 5th Edition, 29-31.05.2017, București, România.